

EVALUACION NO INVASIVA DE LA FUNCION ENDOTELIAL Y SU INCORPORACION A LA PRÁCTICA CLINICA

Peral de Bruno María y Joo Turoni Claudio

Depto. Biomédico – Or Fisiología Facultad de Medicina – Universidad Nacional de Tucumán (UNT)– CONICET-UNT. Autor de correspondencia: Balcarce 32, San Miguel de Tucumán. Teléfono: 4307331. E-Mail: mperal@ct.unt.edu.ar

“En la lucha contra las enfermedades cardiovasculares (ECV), las estrategias preventivas están pasando a ser el principal centro de interés. Estas proponen identificar individuos con riesgo elevado de sufrir ECV. La Detección de disfunción endotelial podría facilitar una mejor estratificación del riesgo y la puesta en práctica de las mismas”

Guías para el manejo de la Hipertensión arterial ESH/ESC¹,

La ECV es la principal causa de morbimortalidad. En el continuum de las enfermedades cardiovasculares (Dzau, 2005) la función vascular se ve alterada tempranamente tanto desde el endotelio como de los otros componentes de la pared vascular. Recientemente se tienen más evidencias que este proceso continuo y progresivo se inicia desde un estado inflamatorio vascular hasta el endurecimiento arterial (stiffness) y la arteriosclerosis. Lamentablemente, los

métodos tradicionales actuales de predicción del riesgo basado en los factores de riesgo (FR) convencionales tienen limitaciones y es necesario identificar algoritmos de estratificación del riesgo más efectivos, que deben tener en cuenta la fisiopatología de la enfermedad, la relación coste-efectividad favorable y deben ser fáciles de aplicar en la práctica clínica. Hasta hace poco tiempo, la facilidad de obtención de las medidas de la función arterial y su correlación con el desarrollo de ECV se apoyaban casi únicamente en la evaluación de la presión arterial periférica en registros aislados en consultorio o domiciliarios (AMPA) y en registros de 24 Hs (MAPA), las técnicas de medición directa no son apropiadas dado su carácter altamente invasivo y están reservadas solo a condiciones especiales. Recientemente se están proponiendo estudios no invasivos de la función endotelial que están incluidos dentro de lo que se conoce como EVALUACION VASCULAR NO

INVASIVA (EVNI) estos estudios de la función endotelial representan y se usan para determinar el estado de las arterias mediante su evaluación no invasiva.

Evaluación no invasiva de la función endotelial

Endotelio estructura y función. El endotelio es una única capa de células que recubre la superficie interna de los vasos sanguíneos. Se comporta como una glándula autocrina, paracrina y endocrina. Las células endoteliales producen mediadores con efectos vasorrelajantes, antiproliferativos, anti trombóticos y antiadherentes, como el óxido nítrico (NO), la prostaciclina, el factor hiperpolarizador y el péptido natriurético tipo C. Las acciones de estos son reguladas por la liberación de sustancias con efectos contrarios, como Endotelina 1, Tromboxano A2, ProstaglandinaH2 y anión superóxido. El rol del endotelio en la función vascular tomó importancia con los estudios de, Furchgott y Zawadzki en 1980, quienes describieron que la acetilcolina (Ach) vasodilataba y no contraía en vasos aislados con endotelio intacto². Propusieron que esta vasodilatación era debida a un "Factor de Relajación Derivado del Endotelio" (EDRF) y no por efecto directo de la Ach en el músculo. Luego, Salvador Moncada planteó que el EDRF era un gas: el NO³. El NO es

considerado como sustancia parácrina es clave en el manteniendo de un balance adecuado en las reacciones de oxido-reducción que aumentan las especies reactivas de oxígeno (ROS) y regulan los mecanismos que actúan desde la dilatación y proliferación vascular, la transmisión de señales nerviosas y hasta el control de la respuesta inmune⁴. En su estructura química contiene un electrón desapareado, permite interactuar en forma rápida con otros átomos (nitrógeno y azufre) que forman parte de las proteínas. La unión del NO a las proteínas u otras moléculas (nitrosación) es la base química para que el NO pueda ejercer sus funciones. A nivel del músculo liso actúa sobre la guanilato ciclasa soluble (GSs) disminuyendo la concentración de calcio. El efecto final del NO en músculo es inducir vasorelajación a través de un mecanismo GC/PKG dependiente. El NO también interactúa con átomos metálicos, como el hierro de la hemoglobina que lo convierte en nitritos y nitratos inactivos, por lo que su vida media es fugaz: de aproximadamente 6 segundos. La transmisión de una señal por un gas producido por una célula, que penetra membranas y regula la función de otras células fue un concepto fisiológico novedoso. El NO produce "vasodilatación endotelio dependiente"

en respuesta a Ach, bradiquinina u otras sustancias a diferencia de la “dilatación endotelio independiente” por drogas de acción directa sobre las células musculares lisas: nitroprusiato de sodio o la nitroglicerina que son dadores directos y exógenos de NO es decir no necesitan la presencia de endotelio funcional para relajar el musculo liso arterial.

Además del NO, hay otros vasodilatadores endoteliales Ej prostaciclina (Prostaglandina I₂: PGI₂), el péptido natriurético tipo C (CNP) y el Factor Hiperpolarizante derivado del Endotelio (EDHF).

La prostaciclina (PGI₂) fue la primera sustancia endotelial descubierta, se sintetiza a partir del ácido araquidónico que se libera de los fosfolípidos de membrana por la acción de la enzima fosfolipasa A₂. La PGI₂ actúa a través de la activación de adenil ciclasa y tiene mayor acción antiagregante plaquetaria que vasodilatadora. La Generación de NO es estimulada por efectos físicos como el stress de roce, (Fig.1) y diferentes agentes como bradiquinina, trombina, serotonina, factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), Ach, interleucina 1, antagonistas cálcicos, inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina (IECA), nitratos y magnesio.

El CNP actúa a través de receptores de membrana (tipo NPRE-B

y probablemente NRP-A) con un dominio guanilatociclasa. Inhibe la endotelina (un potente vasoconstrictor y estimulante de la proliferación muscular), tiene acción antimitogénica y escasa natriuresis, por lo que produce vasodilatación debido a que relaja el músculo liso, inhibe efectos de las catecolaminas y aumenta los niveles de NO. La acción facilitadora de los péptidos natriuréticos sobre la biodisponibilidad de NO se debería a una acción sobre el receptor NPR-C (considerado antiguamente solo receptor de clearance)⁵.

El EDHF es una sustancia, conjunto de sustancias y/o una señal eléctrica que se genera en el endotelio que relaja a células musculares lisas⁶. Su naturaleza no está muy clara, se propone que es un metabolito lábil del ácido araquidónico⁷, como el ácido epoxieicosatrienoico⁸, sin embargo también podría ser el peróxido de Hidrogeno (H₂O₂)⁹, iones de K⁺ liberados hacia el espacio extracelular por una bomba Na/K sensible a ouabaina¹⁰, algunos tipos de “Gap junctions”¹¹ o el CNP⁵. El EDHF produciría hiperpolarización del músculo liso por apertura de canales de K⁺ en respuesta a estímulos físicos. Las uniones comunicantes mio-endoteliales, entre células endoteliales

y las del músculo liso, estarían involucradas en la relajación del EDHF.

Disfunción endotelial: El término disfunción endotelial se utiliza ampliamente para describir cualquier forma de actividad anormal del endotelio. La disfunción endotelial se ha documentado en casi todos los trastornos asociados a la aterosclerosis y la ECV y se ha relacionado también con la presencia de hipertensión, dislipemia, diabetes y obesidad. También se ha descrito en pacientes con enfermedades inflamatorias e infecciosas. Como consecuencia de la activación endotelial y posterior disfunción endotelial, se produce toda una gama de episodios moleculares proateroscleróticos, como la transendotelización monocítica, la adhesión y agregación plaquetaria, el aumento de la permeabilidad a los lípidos y el fomento de entornos oxidativos e inflamatorios en el interior de las placas ateromatosas. El stress oxidativo provoca migración de las células musculares lisas vasculares (CMLV) a la íntima, y es el debilitamiento del casquete fibroso constituido por CMLV lo que favorece la rotura de la placa y los episodios protrombóticos¹², como se observa en el síndrome coronario agudo. Así pues, la función endotelial constituye un índice integrado tanto de la carga total de riesgo cardiovascular como de la suma de factores de protección

vascular en un determinado individuo. Dado su papel en el proceso aterosclerótico, no es de extrañar que múltiples estudios demuestren un valor pronóstico de la disfunción endotelial, tanto la medida en las arterias coronarias como la medida en la circulación

Evaluación de la función endotelial por EVNI

Se basan en la dilatación mediada por flujo (FMD) que ocurre por hiperemia reactiva (HR) postisquémica.

Actualmente hay dos técnicas

a) FMD medida con ecografía de la arteria humeral,

b) FMD medida con análisis de la onda del pulso digital

a) FMD en la arteria humeral: es el método muy utilizado para medir la función endotelial, por su sensibilidad y su carácter no invasivo. Se basa en la liberación endotelial de NO y otros factores relajantes derivados del endotelio, en respuesta a un aumento de la fuerza de cizallamiento tangencial. En esta prueba, esto se produce cuando el flujo sanguíneo del antebrazo aumenta durante la hiperemia reactiva que sigue a un periodo de isquemia transitoria en los territorios distales. La isquemia se produce mediante un manguito neumático, colocado en el antebrazo,

distalmente a la zona de visualización mediante ecografía, e hinchado a una presión suprasistólica por 5 min (Al deshinchar el manguito, el aumento del flujo da lugar a una fuerza tangencial, que activa la NO sintasa endotelial (eNOS) para que libere NO a partir del aminoácido L-arginina. El NO se difunde a las células de músculo liso y causa su relajación, lo que conduce a vasodilatación. Finalmente, se mide la FMD como porcentaje de cambio del diámetro de la arteria humeral (entre la situación basal y el aumento máximo del diámetro).

b) FMD por Pletismografía digital

En 1937, Alrick Hertzman desarrolló una «pletismografía fotoeléctrica», que describió como un dispositivo que «aprovecha el hecho de que la absorción de la luz por un tejido transiluminado varía en función de su contenido de sangre». Esto es consecuencia de la ley de Lambert-Beer, que relaciona la absorción de la luz con la densidad óptica. El componente continuo se atribuye a la absorción de la luz por el tejido y el volumen de sangre fijo, y el componente pulsátil se atribuye a los cambios del volumen sanguíneo durante el ciclo cardíaco. La fotopletismografía, una vez calibrada con una determinación de la presión arterial, puede utilizarse en el dedo de la mano para obtener la monitorización

continua de la presión arterial dactilar. Un fotopletismógrafo moderno incorpora un diodo emisor de luz y un sensor en una pinza para el dedo donde se muestra una onda típica (línea continua). Existe también una tecnología diferente para medir el mismo fenómeno. Recientemente se ha introducido un manguito de pletismografía neumática para el dedo de la mano, y ello proporciona un nuevo método para la evaluación del volumen de flujo sanguíneo «de latido a latido» mediante el registro de los cambios del volumen pulsátil arterial en el dedo. Con estos instrumentos, los cambios del volumen pulsátil sanguíneo se utilizan como indicador sustitutivo del flujo sanguíneo basal. Dado que el flujo periférico depende del tono de los vasos sanguíneos pequeños, estos métodos se denominan determinaciones del tono arterial periférico (TAP). Para valorar la función endotelial, se compara el flujo sanguíneo postisquémico (hiperémico) con el flujo sanguíneo basal (Delta de Flujo: Fig 2). Se efectúa una monitorización en un dedo de cada mano y se coloca un manguito de presión en la parte superior de uno de los brazos para producir una isquemia transitoria, al tiempo que se utiliza el otro brazo como control. Tras la medición del flujo basal, se hincha el manguito de presión arterial por encima

de la presión sistólica por 5 min para inducir HR postisquémica

CONCLUSIONES

Perspectivas actuales y futuras para su uso en la práctica clínica

Estas técnicas no invasivas podrían ser útiles en la evaluación de la disfunción endotelial en la práctica clínica. Desde una perspectiva técnica, hay varias cuestiones que habrá que investigar antes de su recomendación para en el uso habitual. En primer lugar, debemos establecer si de verdad valoran la función endotelial y con qué precisión o si reflejan el efecto combinado de muchas variables (dependientes y no dependientes del endotelio) que afectan a las respuestas vasculares. En segundo lugar, es importante estudiar si muestran realmente correlación directa con los efectos de la intervención. Dado que la mayoría de estas técnicas valoran indirectamente la función endotelial y se ven afectadas por la presencia de agentes externos, se debe definir protocolos rigurosos destinados a reducir al mínimo los efectos de estos factores de confusión.

Es concebible que el uso de estas técnicas en la práctica clínica pueda mejorar la estratificación del riesgo del paciente, ayudar a poner en funcionamiento estrategias preventivas y mejorar también la monitorización del tratamiento. Aunque se han realizado ya varios estudios serán necesarias nuevas investigaciones en estudios clínicos amplios y que utilicen los patrones de referencia apropiados para evaluar el papel de esta metodología en relación con el diagnóstico y la intervención. Deberán realizarse estudios clínicos prospectivos y bien diseñados, en individuos de la práctica clínica, para aclarar si la función endotelial, evaluada con las técnicas descritas, constituye un factor de riesgo independiente y/o un marcador del riesgo independiente que aporte información adicional respecto a la proporcionada por los FR de ECV clásicos. Deberán efectuarse también comparaciones de los diferentes instrumentos de evaluación del riesgo actualmente utilizadas en la práctica clínica en la evaluación de la función endotelial

BIBLIOGRAFIA

1- Mancía G, Fagard R, Narkiewicz K, Redón J, Zanchetti A, Nilsson P, Burnier M, Viigimaa M, Ambrosioni E, Caulfield M, Coca A, Olsen H, Roland E. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). J Hypertens. 2013; 31:1281-357.

- 2- Furchgott R, Zawadzki J. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288:373-376.
- 3-Moncada S, Palmer R, Higgs E. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev.* 1991; 43:109-142.
- 4- Wink D, Hines H, Cheng R, Switzer C, Flores-Santana W, Vite M, Ridnour L and Colton C. Nitric oxide and redox mechanisms in the immune response. *J Leukocyte Biol.* 2011; 89: 873-891.
- 5-Elesgaray R, Costa M, Caimi M, Balaszczuk A, Arranz C. Participación del receptor MPR-C en la activación de la eNOS inducida por el PNA en el corazón, la arteria aorta y el riñón. *Rev Arg de Cardiología* 2005; 73: 129-134.
- 6- Luksha L; Agewall S; Kublickiene K. Endothelium-derived hyperpolarizing factor in vascular physiology and cardiovascular disease. *Atherosclerosis*; 2009; 202:330-34.
- 7-You J, Golding E, Bryan R. Arachidonic acid metabolites, hydrogen peroxide, and EDHF in cerebral arteries. *Am J Physiol Heart Circ .* 2005; 289:H1077-H1083.
- 8 -Oltman C, Ane N; Fudge J; Weintraub N; Dellsperge K. Endothelium-derived hyperpolarizing factor in coronary microcirculation: responses to arachidonic acid. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 281: H1553–H1560.
- 9-Shimokawa H, Morikawa K. Hydrogen peroxide is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in animals and humans. *J Mol Cell Cardiol* 2005; 39: 725-732.
10. Luksha L; Agewall S; Kublickiene K. Endothelium-derived hyperpolarizing factor in vascular physiology and cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 2009; 202:330-34.
- 11-Griffith Endothelium-dependent smooth muscle hyperpolarization: do gap junctions provide a unifying hypothesis?. *British J Pharmacol* 2004; 141: 881–903
- 12- Ross R. Atherosclerosis - An Inflammatory Disease. *N Engl J Med* 1999; 340:115-126
- 13- Cooke C, Davidge S. Peroxynitrite increases iNOS through NF-κB and decreases prostacyclin synthase in endothelial cells. *Am J Physiol - Cell Physiol* 2002; 282: C395-C402
- 14- Herrera N, Amaya E, Joo Turoni C, Berman S, Luciardi H, Coviello A; Peral Bruno M. Inflammatory and prothrombotic activation with conserved endothelial function in patients with chagas disease. *Clin Applied Thromb/Hemost* 2011; 5: 502-507.

FIGURAS

Fig 1: Resumen de los principales pasos implicado en la activación de la NO sintasa endotelial (eNOS) a través del stress de roce. Otra fuente de NO endotelial sería la activación de la NO sintasa inducible (iNOS), también presente en las células endoteliales, y estimulada por citoquinas a través de estimulación de factores de transcripción, por ejemplo NF- κ B¹³.

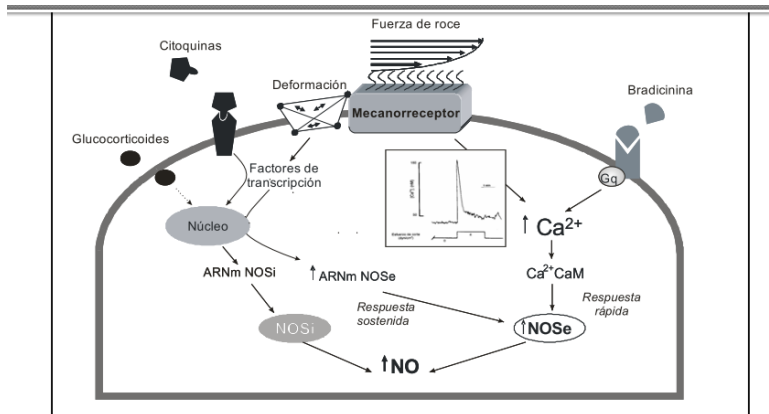


Fig. 2: Registro grafico de la onda de pulso digital medida con un fotopletismografo antes (arriba) y luego de 5 min de isquemia suprasistólica (abajo)¹⁴

